

微量元素对虫草蝠蛾幼虫生长发育的影响*

杨跃雄 杨大荣 何远辉 沈发荣 李朝达 舒 畅

(中国科学院昆明动物研究所 650107)

Q969.422.1

摘要 按月采样, 分析测定虫草蝠蛾幼虫体微量元素的组成。应用 Q 模式系统聚类方法, 分析了幼虫受环境影响引起的元素代谢变化。结果表明虫体所含元素与环境温度的变化及自身的生理活动密切相关。5、10 月份幼虫组的元素含量相近, 前者正当幼虫结束休眠后恢复活动的时期, 后者是幼虫处于准备进入越冬的前期, 两组幼虫此时均处于取食高峰期。3、4 月份组的亦较接近, 幼虫正渐恢复活动但不取食。8 月份幼虫蜕皮前后, 消耗较大, 需摄取大量食物。计算结果表明 7、9 月份的元素含量接近, 这与上述现象有一定联系; 应用对应因子分析法得到的结果是: 元素 Fe、P 对 10、11 月份幼虫组的贡献值显著; Na、Ca、Mg 对 8、9 月份的贡献值显著; Cu、Zn、Co、Cd、Si 对 4、5 月份的贡献值显著。

关键词: 虫草蝠蛾, 元素, 生长发育, 聚类分析, 对应因子分析

微量元素; 生长; 发育

冬虫夏草是我国传统的名贵中药材。它是虫草菌 *Cordyceps sinensis* 寄生于蝠蛾属 *Hepialus* 幼虫形成的虫-菌结合体。本文通过分析测定不同生长季节蝠蛾属幼虫体内的微量元素组成, 试图研究它们对环境的影响引起的元素代谢变化, 以及该虫摄入的微量元素对自身生长发育的影响。并将各相关因子采用多元统计的方法进行系统聚类分析和相关对应分析。期能从幼虫的整体水平上, 了解虫体内的元素在一年四季中的代谢状况, 以及每种元素在不同季节中的贡献值, 从而揭示元素在幼虫生长发育中的作用。

材 料 和 方 法

1. 人工饲养幼虫和取材 在云南省横断山区白马雪山 157 号道班处 (海拔 3950 m) 建立养虫基地, 选取当地优势种白马蝠蛾 *Hepialus baimaensis* 幼虫, 置于与虫草菌源隔离的样地内用珠芽蓼饲养 (该虫易受到虫草菌感染致死)。约在每月中旬取一组 5 龄幼虫作为测定样品, 按月分为 12 组, 75% 酒精杀死后固定备用 (每组选用 20 条健康幼虫)。

2. 微量元素测定 各测试组幼虫用强酸消化液 (硫酸: 硝酸 = 1 : 3) 消化水解, 用美国产 IL-plasma-200 型等离子体发射光谱仪进行测定。样品处理和测定参见杨跃雄 (1987) 的方法。用不加试虫的等量强酸消化液作空白对照组, 将各测试组的观测

* 国家自然科学基金和云南省科委资助项目。
本文 1991 年 3 月 6 日收到, 同年 9 月 18 日修回。

值减去空白对照组的观测值(酒精、硫酸、硝酸中均会含有一些微量元素),即为各组的实际测定值。

3. 分析方法 采用Q模式系统聚类法和对应因子分析法分析。用于统计分析的项目是12组幼虫,每组测定17种微量元素,共得到 $12 \times 17 = 204$ 项。将204个数据用Basic语言编制程序,输入IBM-PC型计算机运算。Q模式系统聚类法亦称样品主成份聚类法,即通过计算得到样品组(幼虫组)间元素含量的相似程度顺序。对应因子分析是用共同的因子轴,表示Q模式样品组(幼虫组)与R模式变量组(每组幼虫的微量元素)在同一空间的散点位置。根据它们之间距离的大小,来判断每种元素在样品组中的贡献值。

结果和讨论

1. 不同月份幼虫微量元素的比较 虫草蝠蛾幼虫的整个生长期均在土壤中度过,生活史较长,完成6龄期约需3年左右,因而一年四季均可采到同一龄期的幼虫。由于它们生长在高寒山区,土壤的温湿度随季节变化幅度大,故在不同的季节内,其生态行为和生长速率即使是同龄期幼虫亦会有显著差异(杨跃雄,1989)。因此其微量元素的组成亦不尽相同。为探索其中的规律,作者在一年内每月取一组幼虫,共计12组,分别测出每组所含的微量元素Na、Ca、Mg、Fe、Cu、Zn、Co、V、Ni、Cr、Cd、Al、Mn、Si、B、P等17项共取得 $12 \times 17 = 204$ 个数据。

采用Q模式系统聚类法,对12个月份组幼虫所含的元素进行比较分析。其主要过程包括:(一)选择表示元素间相关性的指标

(二)对包含多个元素的各幼虫组间的相互关系程度,定出一种表示方法 根据各幼虫组所测得的元素数据,选用相似系数(夹角余弦 $\cos\theta$)来表示各组幼虫间元素含量比例关系的相似程度。按照关系密切的程度,排列出一个由小到大的分类系统,具体作法是:将所得原始数据 $12 \times 17 = 204$ 个,排列成原始数据矩阵:

$$Y = (Y_{ij})_{np}$$

其中 $n = 12$ (幼虫组); $p = 17$ (每组幼虫所测的17个元素观测值); Y_{ij} 表示第 i 组幼虫的第 j 个元素观测值的编码值。

其中 $i = 1, 2, 3, \dots, 12$; $j = 1, 2, 3, \dots, 17$ 。

其次再按幼虫组间的对应比例关系,如:Na/Na, Ca/Ca……等,换成比例关系矩阵:

$$X = (X_{ij})_{np}$$

再将比例矩阵变换成标准化矩阵

$$X' = (X'_{ij})_{np}$$

其中

$$X_{ij} = \frac{X_{ij} - \bar{X}_j}{S_j}, \quad \bar{X}_j = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_{ij}, \quad S_j = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)^2}$$

所谓相关系数(夹角余弦)作为度量每两组幼虫间相互关系的统计量,就是将任意两组幼虫看成P维空间的两个向量($P=17$)。向量间的夹角越小,说明两组幼虫间所含元素的比例关系越接近。

而第j个向量与第k个向量的夹角余弦值(即相关系数)为

$$\cos\theta_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^P X'_{ji} \cdot X'_{ki}}{\sqrt{\sum_{i=1}^P (X'_{ji})^2 \cdot \sum_{i=1}^P (X'_{ki})^2}}$$

($j, k = 1, 2, 3, \dots, n = 12$)

而 $-1 \leq \cos\theta \leq 1$

当 $\cos\theta$ 接近1时,关系就密切;接近-1时,关系就疏远。

根据上述方法,用Basic语言编制程序,输入IBM-PC型计算机进行运算,将结果列成聚合顺序(见表1)。

表1 12组幼虫的聚合顺序
Tab. 1 Polymeric sequence of the 12 groups larva

两两幼虫组		最大相似系数
KK=5	JJ=10	MAX(cos θ)=0.8859946
KK=3	JJ=4	MAX(cos θ)=0.8536901
KK=7	JJ=9	MAX(cos θ)=0.7718474
KK=2	JJ=5	MAX(cos θ)=0.7581088
KK=2	JJ=12	MAX(cos θ)=0.7480958
KK=2	JJ=11	MAX(cos θ)=0.7269387
KK=7	JJ=8	MAX(cos θ)=0.5700738
KK=6	JJ=7	MAX(cos θ)=0.5594236
KK=2	JJ=6	MAX(cos θ)=0.5450279
KK=2	JJ=3	MAX(cos θ)=0.5354875
KK=1	JJ=2	MAX(cos θ)=0.5240846

KK, JJ=1-12:表示按月采集的12个幼虫组。

MAX(cos θ):表示第KK组幼虫与第JJ组幼虫的最大相似系数。

根据表1所列顺序,划出聚合顺序(见图1)。

图中显示:5月份和10月份幼虫的元素关系最为接近。据观察,每年的10月中、下旬,雪山草甸积雪加厚,地表自上而下地形成冻土。封冻期持续到4月底,积雪融化,冻土始解冻(杨大荣,1991)。由此认为,5月份处于土壤完全解冻,幼虫经过休眠期的消耗和代谢后,需补充大量食物以恢复正常的生理功能;10月份幼虫即将进入休眠而需增加体内能量储存,因此我们的分析结果,与幼虫的取食行为有密切的关系。

雪山冻土的解冻是一非常缓慢的过程,这时幼虫逐渐恢复活动,但不易取得食物,因分布有食物的土壤浅层仍较硬(土壤的解冻是自下而上的)。3、4月份均属这一过

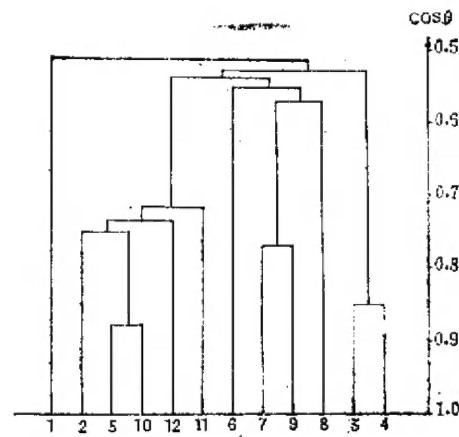


图1 12组幼虫的聚合顺序

Fig. 1 Polymeric sequence of 12 groups larva

1-12: 符号和意义与表1 KK, JJ = 1-12相同。

cosθ: 与表1中的MAX意义相同。

程, 这可能是3、4月份两组的元素较相接近的原因。

据饲养观察, 绝大多数幼虫在8月份都有一次蜕皮现象。这一过程对于虫体是很大的消耗, 因而蜕皮前后都需摄取大量食物。故结果显示7、9月份幼虫的元素含量接近。

元素是组成幼虫个体的基本单元, 自虫卵孵化成一龄虫后, 虫体的元素全都来自食物。因而研究幼虫整体的元素变化情况, 在一定程度上能反映幼虫的生长发育情况。据杨大荣等(1991)记载, 1、2月份的幼虫均处于休眠状态, 幼虫集中分布的土层(10—15厘米)地温, 以1月中、下旬至2月上、中旬为全年最低点, 平均 $-2.34 \sim -1.68^{\circ}\text{C}$ 之间。换言之, 这段时间之前或后地温相对较高。因此, 初步认为: 幼虫在经历最冷极限过程中, 由于抗寒的需要, 迫使幼虫再次调整自身的生理代谢机制, 如降低水份, 提高无机盐类, 其中磷酸盐、镁、钙和氯化物增长十分明显, 其它元素也比另外时期增高, 因而使这两个月份组幼虫的元素含量结构比例发生了变化。

2. 元素在幼虫生长发育中的贡献值 研究目的是尝试应用数学分析方法, 探讨每一幼虫组的每一种元素的观测值, 对幼虫产生的贡献值大小, 即相关关系的大小程度, 从而能定量地分析出每一种元素在不同季节, 或者在幼虫的不同发育历期中所产生的影响。

将12个月份幼虫组列为12个样品组, 将每组所测的17个元素观测值看作变量数, 这里应用对应因子分析法研究它们的相关关系。此法是在R模式与Q模式因子分析基础上发展起来的。其主要特点是可以共用共同的因子轴, 同时表示样品与变量的载荷, 从而揭示所研究样品与变量间的内在联系, 分析出各变量对样品产生的贡献值。此法最早由法

国统计学家 Beozzecri (1970) 提出。现设原始变量矩阵为 $X = \{X_{ij}\}$, 它是 $N \times M$ 阶矩阵, 其中 N 为样品组数 (12 组), M 为每组样品的变量数 (17 个变量), X_{ij} 为第 i 个样品的第 j 个变量的观测值。其中 $i = 1, 2, \dots, 12$; $j = 1, 2, \dots, 17$ 。

具体计算公式和方法参见 David (1974) 的方法。用 Basic 语言编制程序, 将 12×17 个原始数据输入 IBM-PC 型计算机, 算出 Q 模式和 R 模式的载荷因子 (表 2)。

表 2 幼虫组的 Q 模式载荷因子和所含元素 (17 种) 的 R 模式载荷因子
Tab. 2 Correspondence analysis in Q-model of 12 groups larva, division of the groups into months, and R-model of 17 elements in the larva

R model				Q model			
no.	I (因子 1)	II (因子 2)	III (因子 3)	no.	I (因子 1)	II (因子 2)	III (因子 3)
1	-0.4629841	-0.3797357	-0.450417	1	0.9039401	0.0296424	-0.6666733
2	-0.1279827	-1.384537	-0.4186147	2	0.9155407	0.6143348	-0.0448435
3	-0.2762137	-1.418801	0.4887548	3	0.8794821	-3.336364E-02	
4	-0.6375906	0.2273566	-1.823335				0.2827201
5	0.404471	-0.3633782	-1.21693	4	-0.5642148	-0.6749401	-2.294788
6	0.5208377	0.2247939	-2.058202	5	1.072965	-6.637886E-02	
7	0.2967017	-0.6080422	0.3855956				1.160473
8	1.196167	0.2178507	0.8772561	6	-1.882636	3.277479	-0.2845383
9	-0.5462817	3.074363	0.6094632	7	-1.15502	1.49426	-0.6889645
10	1.542086	1.252597	0.4419475	8	-1.069683	-1.182195	1.169785
11	2.023262	0.9972449	0.6718935	9	0.1849816	-2.176362	-1.120403
12	0.9347754	-0.2816217	1.195566	10	-0.8110121	-0.8219589	-0.2535918
13	1.538008	0.62529	0.4339577	11	-1.084559	0.4728158	1.171996
14	-1.553191	0.8218896	-9.3609E-02	12	-1.219763	-0.8548026	0.9845674
15	0.8414009	-0.3534916	0.6216208				
16	-1.712928	-0.6128303	1.628124				
17	-0.8548915	0.5354549	0.149169				

no. 1-17 (R 模式) 依次表示元素 Na Ca Mg Mo Fe Cu Zn Co V Ni Cr Cd Al Mn Si B P.
no. 1-12 (Q 模式) 依次表示 1-12 月份测试的幼虫组。

根据表中的载荷因子划出样品与变量的载荷图 (见图 2)。

图中表示 Q 模式和 R 模式因子在共同的因子轴上的载荷。前者是 12 个幼虫组的载荷因子, 后者是每幼虫组的 17 个元素变量的载荷因子。图中变量与样品的点很接近, 则说明该变量与该样品的关系密切; 或者说二者距离越近, 前者对后者的贡献值就越大。

图 2 显示: 6、7 月份幼虫组与 Al、Mn 的距离接近, 说明在此季节内吸收这两种元素对它自身产生的贡献值较大。杨大荣 (1991) 的结果亦显示 Al、Na、Mn、B 在 7 月份幼虫体中积累偏高。Fe、P 对 10、11 月份幼虫的贡献值显著, 推测是与该幼虫接近越冬期有关。以往研究结果显示, 1-3 龄幼虫的抗寒力最强, 在低温情况下会很快在体内积累 Fe、P, 以利于合成抗寒所需的丙氨酸 (杨跃雄, 1989)。8、9 月份是该幼虫的蜕皮高峰期, 图中显示 Na、Ca、Mg 对该时期幼虫的贡献值显著。据观察, 它蜕皮后形

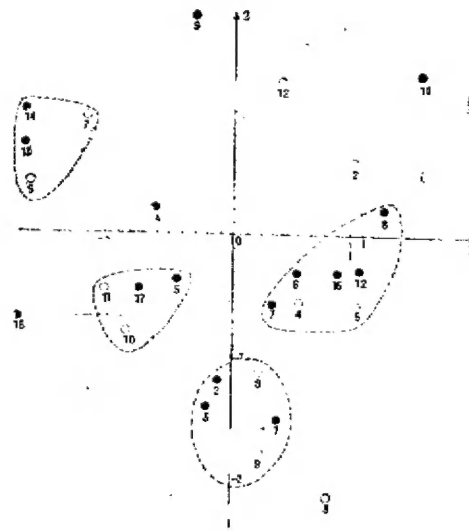


图2 12个幼虫组与所含17种元素的对应分析因子载荷图

Fig. 2 Correspondence analysis in Q-model of 12 groups larva, division of the groups into months, and R-model of 17 elements in the larva

●……1-17: 依次表示下列17种元素Na Ca Mg Mo Fe Cu Zn Co V Ni Cr Cd Al Mn Si B P.
○……1-12: 依次表示12个月中每月份的幼虫组。

成新的头壳, 必然要补充大量的Ca质。同时, 在幼虫的新表皮形成, 蛋白质鞣化与暗化过程中, 必然利用大量酪氨酸, 而酪氨酸的合成需要Na、Mg离子的参与(张克斌, 1989)。

从以上结果看, 元素在一定程度上, 是能反映该虫受环境因素作用而发生的一些生理活动变化情况的。

感谢: 蒙德钦县科委的同志协助野外工作。

参 考 文 献

- 杨大荣等 1991 白马蝠蛾幼虫的抗寒性研究。昆虫学报 34(1): 32—37。
 杨跃雄等 1987 冬虫夏草及其寄主昆虫、虫草菌丝体中微量元素的分析。中草药 10(6): 19—27。
 杨跃雄等 1989 群分析在研究虫草蝠蛾幼虫生长发育中的应用初探。动物学研究 10(2): 88。
 杨跃雄等 1990 氨基酸和微量元素在虫草菌感染虫草蝠蛾幼虫中的影响。动物学研究 11(3): 237—242。
 杨跃雄等 1991 冬虫夏草中17种微量元素的背景值及其特征。西南农业学报 4(1): 63—68。
 张克斌等 1989 昆虫生理。P31—41 陕西科学技术出版社。
 沈发荣等 1991 温、湿度对德钦蝠蛾繁殖力的影响。动物学研究 12(3): 271—276。
 David, M. et al. 1974 Progresses in R-model and Q-model analysis, correspondence analysis and its application to the study of geological processes. Canadian Journal of Earth Sciences 11:131—138。

INFLUENCE OF TRACE ELEMENTS ON THE LARVAE GROWTH OF THE GHOST MOTH (*Hepialus*)

Yang Yuexiong Yang Darong He Yanhui Li Chaoda Shu Chan

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica 650107*)

This paper dealt with comparative studies on the trace elements inside Ghost Moth's larva (*Hepialus*) grown in 12 distinct months during one year.

204 trace elements variables were measured from the 12 groups larva, division of the groups into months, which were collected monthly during one year. All the variables and some combinations of them were explored to study the relationships among elements, feeding, behaviour and development etc. Together with all the investigation on ecological environments of the larva, by using the mathematical method we studied that the growth of the larva were influenced by the elements which were absorbed by itself.

The results of clustering analysis showed that the elements contents in the body of the larva were tuned by surrounding temperature. The elements inside the larva collected in Oct. are almost equal they collected in May.

The larva must moved severe and so they need to feed after hibernation in May, and stored food for winter sleep in Oct. These need led to the addition of eating substances.

The results of correspondence analysis demonstrated that the larva absorb more elements Fe P from nourishments in Oct. and Nov. than in other months, and absorb more Na Ca Mg in Aug. and Sep., and absorb more Cu Zn Co Cd Si elements in Apr. and May.

Key words, Larvae (*Hepialus*), Trace element, Correspondence analysis, Growth, Cluster analysis